

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 400 607**

51 Int. Cl.:

**C07D 491/22** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2008 E 08786333 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.12.2012 EP 2170900**

54 Título: **Forma cristalina II de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina, su uso como compuesto intermedio y productos obtenidos a partir de la misma**

30 Prioridad:

**01.08.2007 EP 07113597**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**11.04.2013**

73 Titular/es:

**SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE  
RIUNITE S.P.A. (100.0%)  
VIALE SHAKESPEARE, 47  
00144 ROME, IT**

72 Inventor/es:

**CABRI, WALTER;  
MARZI, MAURO;  
GIORGI, FABRIZIO;  
BADALONI, ELENA;  
ARMAROLI, SILVIA y  
MARAZZI, GIUSEPPE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 400 607 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Forma cristalina II de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina, su uso como compuesto intermedio y productos obtenidos a partir de la misma.

5 La presente invención se refiere al campo de la química orgánica, en particular a compuestos útiles como compuestos intermedios en procedimientos para la preparación de ingredientes activos en medicina.

### Campo de la invención

10 Esta invención se refiere a un procedimiento para preparar una forma cristalina de (4S)-11-(dimetoximetil)-4-etil-4-hidroxi-1H-pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona (número CAS 84017-99-2), también llamada 7-(dimetoxi-metil)camptotecina. Con la provisión de una etapa de cristalización particular, de manera apropiada, se obtiene una nueva forma cristalina del compuesto anterior.

### Antecedentes de la invención

La camptotecina es un alcaloide que demostró un amplio espectro de actividad antitumoral, en particular contra tumores de colon, otros tumores sólidos y leucemias, y los primeros ensayos clínicos se realizaron a primeros de los años 70.

15 Dado que la camptotecina (CPT) tiene baja solubilidad en agua y es bastante tóxica, se propusieron en la técnica varios derivados a fin de hacer disponibles mejores fármacos, en particular con toxicidad más baja y solubilidad en agua más alta.

Se prepararon muchos derivados de camptotecina, y se hicieron disponibles en la técnica mediante varias rutas de síntesis.

20 La calidad del producto final, tal como su nivel de pureza o la facilidad de aislamiento, pueden depender también de la ruta de síntesis y el tipo de productos intermedios.

25 En la patente europea EP 1 044 977 y en Dallavalle S. et al., J. Med. Chem. 2001, 44, 3264-3274, se describen derivados de camptotecina que llevan una alquiloxima sustituida en O en la posición 7 y están dotados de una actividad antitumoral más alta que el compuesto de referencia, el topotecán. Además, estos derivados de camptotecina que llevan un grupo imino en la posición 7 también muestran un índice terapéutico mejorado. Una de las moléculas preferidas es la 7-t-butoxiiminometilcamptotecina (CPT 184), y se conoce bajo el nombre INN Gimatecán.

La 7-(dimetoxi-metil)camptotecina se describe en la patente europea EP 0 056 692 y en Sawada, S. et al., Chemical & Pharmaceutical Bulletin (1991), 39(10), 2574-80.

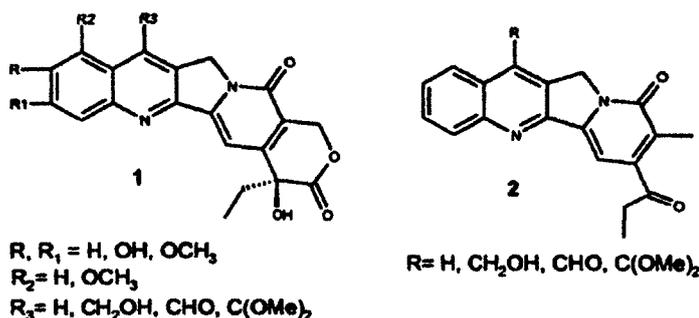
30 Este compuesto se usa en diferentes patentes como compuesto intermedio en la síntesis de derivados de camptotecina.

35 La 7-(dimetoxi-metil)camptotecina se puede preparar por acetalización ordinaria de camptotecina-7-aldehído, por ejemplo calentando camptotecina-7-aldehído en metanol caliente en presencia de un ácido. Alternativamente, este compuesto se puede preparar en una única etapa tratando 7-hidroximetilcamptotecina con un ácido en presencia de metanol, véase la patente europea EP 0 056 692 mencionada anteriormente.

La acetalización es una reacción en equilibrio, y el aldehído de partida puede estar presente en una cierta cantidad. Además, los acetales se pueden convertir en el aldehído de partida en presencia de ácidos.

Es bien sabido que los aldehídos no están dotados de alta estabilidad, y tienden a polimerizarse dando productos secundarios que son difíciles de eliminar de las mezclas de reacción y afectan a la pureza del producto final.

40 La ausencia del aldehído permite la cristalización y eliminación de otras impurezas indeseadas, que pueden tanto estar presentes en el material de partida como derivar de la reacción. Por ejemplo, las 9, 10 y 11 hidroxí- y metoxi-camptotecinas (véase la fórmula general 1 a continuación), la mapicina (véase la fórmula general 2 a continuación), y sus derivados son derivados secundarios producidos en la reacción de formación de la 7-(dimetoxi-metil)camptotecina.



La solicitud de patente internacional WO 2006/067092 describe un procedimiento estereoselectivo para la preparación de formas cristalinas de Gimatecán. Este procedimiento permite la preparación estereoselectiva de Gimatecán. Con la adición de etapas de disolución y precipitación adicionales, llevadas a cabo en diferentes mezclas de disolventes apropiadas, son obtenibles también cuatro nuevas formas cristalinas de Gimatecán usando el mismo procedimiento estereoselectivo.

La 7-(dimetoxi-metil)camptotecina sólo se menciona como material de partida, sin caracterización.

La solicitud de patente internacional WO 03/101995 describe camptotecinas con un anillo de lactona modificado, y se usa la 7-(dimetoxi-metil)camptotecina como compuesto intermedio en la síntesis de los productos finales. La preparación de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina se proporciona como purificada a partir de cromatografía en columna y como un sólido amarillo con p.f. 201 °C (desc.). El rendimiento de producto es 55%.

En el Chemical & Pharmaceutical Bulletin (1991), 39(10), 2574-80, y en la patente europea EP 0 056 692, mencionados anteriormente, la 7-(dimetoxi-metil)camptotecina se describe como purificada a partir de columna, p.f. 222-224 °C (desc.) y cristalizada en agujas.

Las legislaciones farmacéuticas son cada vez más estrictas sobre temas de seguridad concernientes a la fabricación de fármacos. Un aspecto son las Buenas Prácticas de Fabricación (GMP, por sus siglas en inglés, véanse por ejemplo las Directrices de la EMEA y la FDA), y la normalización de los compuestos intermedios y de los niveles de impurezas representa un tema sensible.

Existe aún la necesidad de una forma de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina de pureza más alta y que se pueda usar para la preparación posterior de derivados de camptotecina para ser usados como fármacos, que cumplan los severos requerimientos regulatorios más fácilmente.

Desde un punto de vista regulatorio, un compuesto intermedio de alta pureza significa un producto final de pureza más alta, con especificaciones más severas, por lo tanto menor variabilidad de la calidad. Este último aspecto es requerido y apreciado por las Autoridades Regulatorias. Además, la cristalización de un producto intermedio representa una etapa de purificación óptima, que permite un mejor control de la calidad final, cumpliendo así los requerimientos de las GMP más fácilmente y facilitando todo el procedimiento de producción. En este contexto, la solicitud de patente internacional WO 03/101995 no enseña ninguna cristalización.

Otra necesidad adicional en la síntesis de fármacos es la estabilidad de los compuestos intermedios. La estabilidad es una propiedad deseable y necesaria para los compuestos intermedios, dado que son capaces de resistir las condiciones de las reacciones químicas, en particular temperaturas, sin sufrir degradación o descomposición. Más en particular, se recomienda un alto punto de fusión, especialmente para aquellos compuestos que se funden con descomposición, para evitar la presencia en la mezcla de reacción de productos secundarios de degradación, que hacen la purificación del producto final (el fármaco) mucho más difícil, incluso imposible.

### Compendio de la invención

Los autores de la invención han encontrado ahora, sorprendentemente, una nueva forma de (4S)-11-(dimetoximetil)-4-etil-4-hidroxi-1H-pirano[3',4':6,7]indolizino[1,2-b]quinolina-3,14(4H,12H)-diona, o de otro modo llamada en esta descripción y reivindicaciones 7-(dimetoxi-metil)camptotecina (llamada también Forma II o, con el código de los autores de la invención, ST2337) que proporciona una mejora en el estado de la técnica de la preparación de derivados de camptotecina.

En particular, la presente invención proporciona un polimorfo de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina que está dotado de pureza más alta, en particular con respecto a productos secundarios de tipo aldehído y derivados de los mismos.

Por lo tanto, es un objeto de la presente invención la forma cristalina de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina, Forma II:

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para la preparación de la forma cristalina anterior.

Un objeto adicional de la presente invención es el uso de la forma cristalina de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina como

compuesto intermedio en un procedimiento para la preparación de derivados de camptotecina.

Estos y otros objetos se ilustrarán en detalle en la descripción siguiente, también por medio de las Figuras y Ejemplos.

**Breve descripción de los dibujos**

5 En los dibujos adjuntos:

La Figura 1 representa el difractograma de rayos X en polvo de la Forma polimorfa II de la presente invención, usando un aparato de difracción XRD en polvo controlado por ordenador y examinado en atmósfera inerte. Las condiciones de la difracción fueron 40 kV x 40 mA CuK $\alpha$ .

10 La Figura 2 representa el espectro de FT-IR de reflectancia difusa del compuesto de la presente invención, la Forma polimorfa II, en KBr con un espectrómetro Thermo Nicolet modelo Avatar 370 DTGS.

La Figura 3 representa el comportamiento térmico del compuesto de la invención medido por un aparato de intervalos de fusión.

La Figura 4 representa el análisis por Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) de la Forma polimorfa II.

15 La Figura 5 representa el análisis por Calorimetría de Barrido Diferencial (DSC) de la Forma polimorfa II con una velocidad de barrido diferente.

La Figura 6 muestra el espectro de FT-IR del polimorfo de 7-(dimetoximetil)camptotecina de la técnica anterior (Forma I).

Las Figuras 7-9 muestran espectros de FT-IR comparados del polimorfo de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina acorde con la presente invención (Forma II) y de la técnica anterior (Forma I).

20 La Figura 10 muestra el difractograma de difracción de rayos X en polvo de la Forma polimorfa I de la técnica anterior.

La Figura 11 muestra la comparación entre los espectros de XRPD de la Forma II, el polimorfo de 7-(dimetoximetil)camptotecina acorde con la presente invención, y la Forma polimorfa I del estado de la técnica.

La Figura 12 muestra el comportamiento térmico de la Forma I de la 7-(dimetoximetil)camptotecina.

25 **Descripción detallada de la invención**

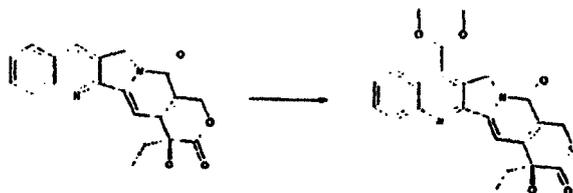
La Forma polimorfa II de 7-(dimetoximetil)camptotecina de la presente invención se caracteriza por los parámetros físico-químicos proporcionados en esta descripción.

Una ventaja particular de la Forma polimorfa II acorde con la presente invención es estar sustancialmente exenta de impurezas de aldehído y derivados del mismo.

30 Mediante el término “sustancialmente exenta” se pretende decir que el compuesto de la presente invención no contiene impurezas de aldehído y derivados del mismo, o al menos cantidades no detectables, o al menos cantidades por debajo de los límites admitidos establecidos por las farmacopeas Nacional o Europeas.

35 Mediante el término “impurezas de aldehído y derivados del mismo” se pretende decir una 7-formil-camptotecina, estando dicha camptotecina opcionalmente sustituida y/o teniendo una lactona modificada, un producto polimérico de aldehído, o cualquier derivado de aldehído.

La Forma polimorfa II de 7-(dimetoximetil)camptotecina se prepara por transformación de la camptotecina, mediante su derivado 7 formilo:



El procedimiento acorde con la invención comprende las siguientes etapas:

40 a. oxidar la posición 7 de la camptotecina o un derivado de la misma para obtener la correspondiente 7-formil-camptotecina o un derivado de la 7-formil-camptotecina;

b. tratar la 7-formil-camptotecina o el derivado de la 7-formil-camptotecina obtenido en la etapa a) con metanol, en presencia de un ácido para obtener una primera mezcla de reacción con metanol y ácido;

c. neutralizar dicha primera mezcla de reacción con metanol y ácido de la etapa b) para dar una segunda mezcla de reacción de metanol sustancialmente neutra;

5 d. añadir agua a dicha segunda mezcla de reacción con metanol sustancialmente neutra para obtener un precipitado;

e. separar dicho precipitado de la etapa d) para obtener un precipitado aislado;

f. cristalizar dicho precipitado aislado de la etapa e) a partir de metanol para dar dicho polimorfo.

10 La etapa de oxidación de la etapa a) se puede realizar según métodos bien conocidos, véase por ejemplo la patente de EE.UU. 6.194.579.

15 En una realización preferida de la presente invención, la etapa de oxidación se realiza con un primer sistema oxidante y un segundo sistema oxidante. En una realización más preferida, dicho primer sistema oxidante es H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%/sal de Fe(II) y dicho segundo sistema oxidante se selecciona del grupo que consiste en ácido acético, CrO<sub>3</sub> y MnO<sub>2</sub>. En la realización más preferida, dicho primer sistema oxidante es H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%/sulfato de hierro y dicho segundo sistema oxidante es dióxido de manganeso (véase la solicitud de patente internacional WO 03/101995).

La etapa b) es también un procedimiento bien conocido para obtener acetales de compuestos aldehídicos. En una realización preferida, dicha primera mezcla de reacción con metanol y ácido se selecciona del grupo que consiste en metanol destilado y una mezcla de metanol y agua en bajo contenido, por ejemplo una disolución de 30% de agua/70% de metanol.

20 El ácido usado en la etapa b) puede ser cualquier ácido orgánico o inorgánico que no interfiera con el progreso de la reacción o con la estabilidad del material de partida o del producto final. Típicamente, dicho ácido se selecciona del grupo que consiste en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HCl SOCl<sub>2</sub>, COCl<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>OH, CH<sub>3</sub>PhSO<sub>2</sub>OH, CF<sub>3</sub>COOH, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H. El ácido preferido es H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98% en una concentración de 10% v/v.

25 Las etapas c), d) y e) también se llevan a cabo según la práctica común, y el experto habitual en la técnica no tendrá dificultad en seleccionar las condiciones apropiadas, equipos y cualquier otro elemento para realizar estas etapas.

La etapa f), que es esencial para conseguir el producto final, es también una etapa común de cristalización que puede ser llevada a cabo por el químico profesional normal, bien a escala de laboratorio o bien a escala industrial, simplemente seleccionando las condiciones apropiadas, tales como volúmenes, temperaturas, tiempo.

30 El aislamiento de la Forma polimorfa II de la 7-(dimetoximetil)-camptotecina se lleva a cabo según la práctica normal, y esta etapa no necesita más explicación.

Preferiblemente, el producto final se seca a fin de eliminar las trazas de disolvente.

Un objeto adicional de la presente invención son solvatos de la Forma polimorfa II de 7-(dimetoximetil)-camptotecina anterior.

35 La camptotecina es un producto comercial o se puede preparar según métodos de la bibliografía, véanse por ejemplo las patentes de EE.UU. 5.053.512, 4.894.456, 5.405.963 y 6.982.333.

40 La camptotecina de partida se suspende en metanol (0,5 a 10%; preferiblemente disolución al 1,5% p/v). La disolución o suspensión se mantiene a una temperatura que oscila de -10 a 80° C (preferiblemente 0 a 50°C) y se le añade un ácido mineral u orgánico, preferiblemente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 90 a 98% (preferiblemente 96%) (1% a 30%, preferiblemente 10% v/v), y en presencia de un primer sistema oxidante adecuado (por ejemplo H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%/sales de Fe(II)), después un segundo agente oxidante (por ejemplo ácido acético, CrO<sub>3</sub>, MnO<sub>2</sub>) para obtener el producto deseado. Un primer sistema oxidante preferido es sulfato de hierro/peróxido de hidrógeno. Un segundo sistema oxidante preferido es dióxido de manganeso.

45 El sólido seco se suspende después en metanol recién destilado o con bajo contenido de agua (disolución al 30%) y se añade un ácido mineral u orgánico que oscila entre cantidades catalíticas y estequiométricas. El ácido puede ser seleccionado del grupo preferido que consiste en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, HCl SOCl<sub>2</sub>, COCl<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>SO<sub>2</sub>OH, CH<sub>3</sub>PhSO<sub>2</sub>OH, CF<sub>3</sub>COOH, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>H. Se pueden usar otros ácidos con resultados similares. El ácido preferido y su concentración son 10% v/v de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 98%.

Después de un tiempo adecuado, tal como 2-6 h, la disolución se neutraliza hasta aproximadamente pH 6 con una base adecuada, tal como NaOH, KOH o Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuosos.

50 Después se añade agua para obtener un precipitado amarillo, que es aislado preferiblemente por filtración y cristalizado de nuevo a partir de MeOH.

El sólido obtenido es finalmente secado, por ejemplo a vacío a 40 °C durante una noche.

5 La Forma polimorfa II es adecuada como compuesto intermedio para la preparación de derivados de camptotecina, tales como los descritos en la patente europea EP 0 056 692, en particular, y preferiblemente, los descritos en la solicitud de patente internacional WO 03/101995, y cualquier otro derivado de camptotecina para el uso como en el tratamiento de enfermedades que responden a la inhibición de la Topoisomerasa I, tal como por ejemplo tumores, infecciones por VIH e infecciones parasíticas.

En una realización ilustrativa de la invención, la Forma polimorfa II de 7-(dimetoximetil)-camptotecina se usó como producto intermedio para la preparación de los compuestos descritos en la solicitud de patente internacional WO 03/101995.

10 Los ejemplos siguientes ilustran adicionalmente la invención.

### Ejemplos

#### Ejemplo 1

15 A una suspensión de 1,53 g (4,4 mmol) de camptotecina en 92 ml de metanol, enfriada con un baño de hielo bajo agitación, se añadieron lentamente 9,2 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 96%, manteniendo la temperatura de la mezcla por debajo de 50 °C. La suspensión así obtenida se calentó a temperatura de reflujo; al alcanzar 50 °C, se añadieron 46 mg de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O y después 3 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% gota a gota, manteniendo la reacción a temperatura de reflujo. Se agitó la reacción durante 2 horas, comprobando la desaparición del producto de partida por TLC. Tras la compleción de la reacción, se enfrió la suspensión hasta 25 °C y se añadieron 2,8 mg de MnO<sub>2</sub>; se agitó la mezcla durante 2 horas, comprobando la desaparición del producto intermedio por TLC. Después se filtró la suspensión a través de una capa de Celite colocada en un filtro Gooch.

La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el sólido obtenido se suspendió en metanol recién destilado o con bajo contenido de agua y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (98%) (4,4 equivalentes).

La suspensión se agitó durante 6 h y después se neutralizó hasta aproximadamente pH 6 con disolución de NaOH 1N.

25 Después se añadió agua para obtener un precipitado amarillo que se aisló por filtración. El sólido se cristalizó a partir de MeOH y se secó a vacío a 40 °C durante una noche.

Caracterización de estado sólido de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina (forma II)

#### *Difractometría de rayos X en polvo*

30 Se obtuvo el difractograma de rayos X en polvo en aproximadamente 15 mg de polvo molido usando un aparato de difracción XRD en polvo controlado por ordenador y se examinó en atmósfera inerte.

Las condiciones del tubo fueron 40 kV x 40 mA CuK $\alpha$ , las ventanas usadas fueron abertura 0,3° y cierre 0,15°. El tiempo para cada etapa de barrido fue 7 s, el intervalo 2  $\theta$  fue 5° - 35°.

35 Después de la adquisición, se realizó un análisis exacto del espectro adoptando un procedimiento para la evaluación de picos teniendo en cuenta tanto la anchura mínima de pico como una cantidad estimada de la parte desordenada. Se concluye que la muestra es cristalina.

Los picos principales de difracción característicos se dan en la siguiente tabla 1.

Tabla 1

Grados 2-Theta $\pm$ 0,2	Intensidad relativa (%)
6,3	20
8,7	21
10,6	100
12,9	8
13,6	23
16,3	18
16,7	20

## ES 2 400 607 T3

18,6	6
19,5	13
21,2	21
23,9	6
25,3	22
26,2	9
27,3	17
28,5	4
28,9	4
29,5	4
30,5	4
31,4	9
32,7	2

La Figura 1 muestra el difractograma de rayos X en polvo de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina (forma II).

Los picos más representativos se dan en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2

Grados 2-Theta	Intensidad relativa (%)
6,3	20
8,7	21
10,6	100
13,6	23
16,3	18
16,7	20
19,5	13
21,2	21
25,3	22
27,4	17

5

### *Espectro IR*

El espectro de FT-IR de reflectancia difusa de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina, forma II, se recogió en una muestra al 2% en KBr con un espectrómetro Thermo Nicolet modelo Avatar 370 DTGS.

En la siguiente tabla 3 se reportan las señales principales ( $\text{cm}^{-1}$ ) características de esta forma cristalina.

10

Tabla 3

Frecuencia ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensidad (% T)
3518	53
2989	65

## ES 2 400 607 T3

2936	65
1744	21
1660	21
1463	50
1155	31
1060	23
769	37

La Figura 2 muestra el espectro IR (en KBr) de 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina (forma II).

### *Comportamiento térmico*

- 5 La 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina sufre degradación, que empieza a partir de la temperatura de aproximadamente 160 °C, medida por un aparato de intervalos de fusión adecuado (Mettler TG 50, rampa de temperatura de 25 °C a 600 °C a 10°C/min, véase la Figura 3) y confirmada por el análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC mod. Mettler DSC 30, rampa de temperatura desde 25 °C hasta 160 °C a 10 °C/min, véase la Figura 4), que indica que no se produjo ningún fenómeno de fusión antes de 160 °C. Se repitió el mismo experimento a diferente rampa de calor (20 °C/min), dando un valor de temperatura de descomposición a 173,56 °C (véase la Figura 5).

### 10 *Análisis HPLC-MS*

Se realizó un análisis HPLC-MS a fin de estudiar el perfil de impurezas de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina. En las siguientes condiciones experimentales descritas, no se ha encontrado ningún pico con un peso molecular compatible con aldehído.

#### *Condiciones experimentales:*

- 15 **Equipo:** - Surveyor LC, microbomba, Automuestreador - Thermo;  
 - Espectrómetro de masas de trampa iónica LCQ DecaXP Plus con interfaz ESI (+),  
 Thermo;
- Columna:** - Inertsil ODS-3 (5 µm, 150 x 4,6 mm ID) – GL Sciences Inc.;
- Fase móvil:** - A: H<sub>2</sub>O + HCOOH 0,1%  
 20 - B: H<sub>2</sub>O/CH<sub>3</sub>CN 10/90 v/v + HCOOH 0,1%;
- Gradiente de elución:** - A/B 70/30 a 100% B en 20 minutos;
- Caudal:** - 1,0 ml/min;
- Detección:** - interfaz ESI (+); temp. del capilar 300 °C;  
 - flujo de gas protector (N<sub>2</sub>): 70;  
 25 - flujo de gas auxiliar (N<sub>2</sub>): 10;  
 - voltaje de capilar: 3 V;
- Voltaje de alimentación:** - 5 kV;
- Corriente de alimentac.:** - 80 µA;
- Compens. lente de tubo:** - 20 V;
- 30 **Intervalo de adquisición:** - 200 - 600 amu.

### *Ejemplo 2 - Ejemplo Comparativo*

Este ejemplo se realizó a fin de averiguar las diferencias entre la forma cristalina de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina obtenida por cristalización en cloroformo/n-hexano, (como describen los antes mencionados Sawada et al., 1994, y llamada en la presente memoria Forma I) y la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina obtenida según la

presente invención, llamada Forma II.

Los resultados (FT-IR, rayos X en polvo y TGA) mostraron la existencia de diferencias entre las dos formas, y que la forma II es más estable (se descompone a temperatura más alta) en comparación con la otra, forma I.

- 5 El objetivo de este ejemplo es verificar que la forma descrita en el citado artículo, cristalizada por cloroformo y n-hexano (llamada Forma I) es diferente de la Forma II de la presente invención.

Equipos

Espectrofotómetro FT-IR THERMO (Nicolet 5700) conectado a un PC por medio del software de análisis OMNIC;

Estufa de secado;

Placa de agitación;

- 10 TGA termoequilibrio PerkinElmer (dept. analítico Lab. MASC);

NMR Varian (dept. analítico Lab. MASC);

Rayos X en Polvo (ISMAC).

Muestra y disolvente

7-(dimetoxi-metil)-camptotecina: Según el Ejemplo anterior.

- 15 n-hexano: MERCK (Lote K37503267 725) (Punto de ebullición 69 °C).

Cloroformo: Sigma Aldrich (Lote 01635EC-344) (Punto de ebullición 61 °C).

El compuesto 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina se preparó según las etapas a)-e) descritas anteriormente y en el Ejemplo 1.

Técnica de cristalización

- 20 Se solubilizaron aproximadamente 130 mg de 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina en aproximadamente 15 ml de cloroformo, en un matraz marrón de fondo redondo, bajo agitación magnética. Después de la completa solubilización del sólido, la disolución se filtró en un filtro Nalgene de 0,2 µm, y después se le añadieron 10 ml de n-hexano hasta obtener la completa precipitación.

La cosecha obtenida se separó por filtración y se secó con bomba de vacío.

- 25 Caracterización de 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina, Forma I

El sólido obtenido se identificó por espectroscopía NMR, usando un espectrómetro NMR 500 (sólido solubilizado en DMSO) y se caracterizó por FT-IR (Figuras 6, 7, 8 y 9), XRPD (Figura 10) y TGA (Figura 12).

La NMR está conforme a la estructura de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina.

- 30 La comparación entre los espectros de infrarrojo de la Forma II y la Forma I mostró una significativa diferencia entre la región 3600-2700 cm<sup>-1</sup>, alrededor de 1700 cm<sup>-1</sup> y entre 1600-800 cm<sup>-1</sup> (véanse las Figuras 7, 8 y 9).

La Concordancia FT-IR entre estas dos formas es 35,05%.

Tabla 4

Valores 2θ del difractograma de rayos X en polvo para la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina, Forma I

Grados 2-Theta	Intensidad relativa (%)
5,75	33,65
7,25	20,19
8,75	100
13,4	36,53
14,25	43,26
14,9	20,19

## ES 2 400 607 T3

15,2	25
15,65	35,57
15,85	36,53
17	95,19
17,3	66,34
17,75	43,26
18,2	62,5
20,4	36,53
22,05	52,88
22,7	35,57
23,55	50
26,45	29,80
28,95	26,92

La comparación entre los espectros de XRPD de la Forma II y la Forma I mostró una significativa diferencia (véase la Figura 11). De hecho, los picos de difracción más característicos de la Forma II están a 6,3, 10,6, 19,5 y 25,3 grados (mientras que los correspondientes de la Forma I están a 5,75, 18,2 y 23,55 grados).

### 5 *Comportamiento térmico*

La forma I de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina sufre degradación, que empieza a partir de la temperatura de 123,38 °C (el escalón a aproximadamente 100 °C es debido a la variación de la rampa de calentamiento), medida por un aparato de intervalos de fusión adecuado (Mettler TG 50, rampa de temperatura desde 25 °C hasta 600 °C a 20 °C/min, véase la Figura 12) y confirmada por el análisis de calorimetría de barrido diferencial (DSC mod. Mettler DSC 30, rampa de temperatura desde 25 °C hasta 160 °C a 20 °C/min, véase la Figura 4), que indica que no se produjo ningún fenómeno de fusión.

#### Conclusión

El estudio de la forma cristalina de la 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina obtenida por cloroformo/n-hexano (Forma I) y de la Forma II mostró significativas diferencias entre ellas.

15 El análisis DSC-TGA mostró que esta Forma I es menos estable en comparación con la Forma II, de hecho la temperatura de descomposición de la Forma II es 173,56 °C, mientras que para la Forma I es 123,38 °C.

20 Ambas formas sólidas de 7-(dimetoxi-metil)-camptotecina tienen casi el mismo comportamiento térmico cuando el análisis de los puntos de fusión se realizó por un instrumento muy similar al usado por Sawada en 1991. De hecho, usando un BUCHI 535 melting point, los autores de la invención no son capaces de apreciar la descomposición, y los fenómenos de fusión pueden ser confundidos con descomposición. Con el sistema Buchi los autores de la invención registraron un punto de fusión cercano a 222-224 °C para la forma I y 224-226 °C para la forma II.

**REIVINDICACIONES**

1. Forma polimorfa II de 7-(dimetoxi-metil)camptotecina, que tiene una temperatura de degradación de 173,56 °C cuando se mide con una rampa de temperatura de 20 °C/min.

5 2. La Forma polimorfa II según la reivindicación 1, que muestra un patrón de difracción de rayos X en polvo que tiene los siguientes picos característicos expresados en grados  $2\theta \pm 0,2$

<b>Grados 2-Theta</b>	<b>Intensidad relativa (%)</b>
6,3	20
8,7	21
10,6	100
13,6	23
16,3	18
16,7	20
19,5	13
21,2	21
25,3	22
27,4	17

3. La Forma polimorfa II según una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, que muestra un espectro IR (KBr) con los siguientes picos principales:

<b>Frecuencia (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Intensidad (% T)</b>
3518	53
2989	65
2936	65
1744	21
1660	21
1463	50
1155	31
1060	23
769	37

10 4. La Forma polimorfa II según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, que está sustancialmente exento de impureza de aldehído.

5. Un solvato de la Forma polimorfa II de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4.

6. Un procedimiento para la preparación de la Forma polimorfa II de las reivindicaciones 1-4, que comprende las siguientes etapas:

- 15 a. oxidar la posición 7 de la camptotecina o un derivado de la misma para obtener la correspondiente 7-formil-camptotecina o un derivado de la 7-formil-camptotecina;
- b. tratar la 7-formil-camptotecina o el derivado de la 7-formil-camptotecina obtenido en la etapa a) con metanol, en presencia de un ácido para obtener una primera mezcla de reacción con metanol y ácido;
- c. neutralizar dicha primera mezcla de reacción con metanol y ácido de la etapa b) para dar una segunda mezcla

de reacción con metanol sustancialmente neutra;

d. añadir agua a dicha segunda mezcla de reacción con metanol sustancialmente neutra para obtener un precipitado;

e. separar dicho precipitado de la etapa d) para obtener un precipitado aislado;

5 f. cristalizar dicho precipitado aislado de la etapa e) a partir de metanol para dar dicho polimorfo.

7. Procedimiento según la reivindicación 6, en donde la etapa de oxidación de la etapa a) se realiza con un primer sistema oxidante y un segundo sistema oxidante.

8. Procedimiento según la reivindicación 7, en donde dicho primer sistema oxidante es  $H_2O_2$  al 30%/sal de Fe(II) y dicho segundo sistema oxidante se selecciona del grupo que consiste en ácido acético,  $CrO_3$  y  $MnO_2$ .

10 9. Procedimiento según la reivindicación 8, en donde dicho primer sistema oxidante es  $H_2O_2$  al 30%/sulfato de hierro(II) y dicho segundo sistema oxidante es dióxido de manganeso.

10. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6-9, en donde dicha primera mezcla de reacción con metanol y ácido de la etapa b) se selecciona del grupo que consiste en metanol destilado y disolución de 30% de agua/70% de metanol.

15 11. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6-10, en donde dicho ácido de la etapa b) se selecciona del grupo que consiste en  $H_2SO_4$ ,  $CH_3COOH$ ,  $H_3PO_4$ ,  $HCl$ ,  $SOCl_2$ ,  $COCl_2$ ,  $CH_3SO_2OH$ ,  $CH_3PhSO_2OH$ ,  $CF_3COOH$ ,  $CF_3SO_3H$ .

12. Procedimiento según la reivindicación 11, en donde dicho ácido de la etapa b) es  $H_2SO_4$  al 98%.

13. Procedimiento según la reivindicación 11 o 12, en donde dicho ácido está en una concentración de 10% v/v.

20 14. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 6-13, en donde, después de la etapa f), dicha Forma polimorfa II cristalizada se seca a vacío a 40 °C durante una noche.

15. Un procedimiento para la preparación de un derivado de camptotecina en el que se usa la Forma polimorfa II de las reivindicaciones 1-4.

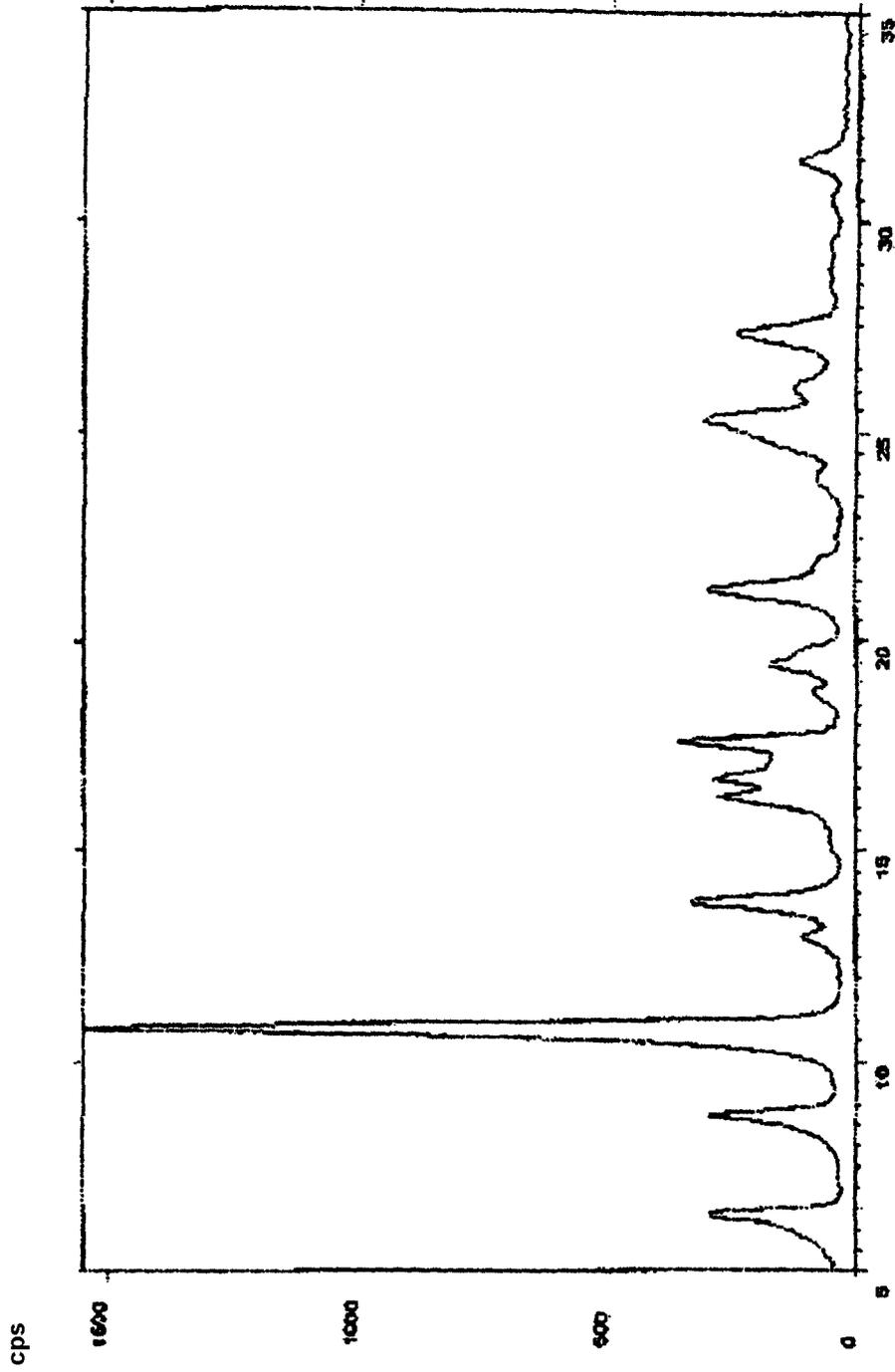


Figura 1

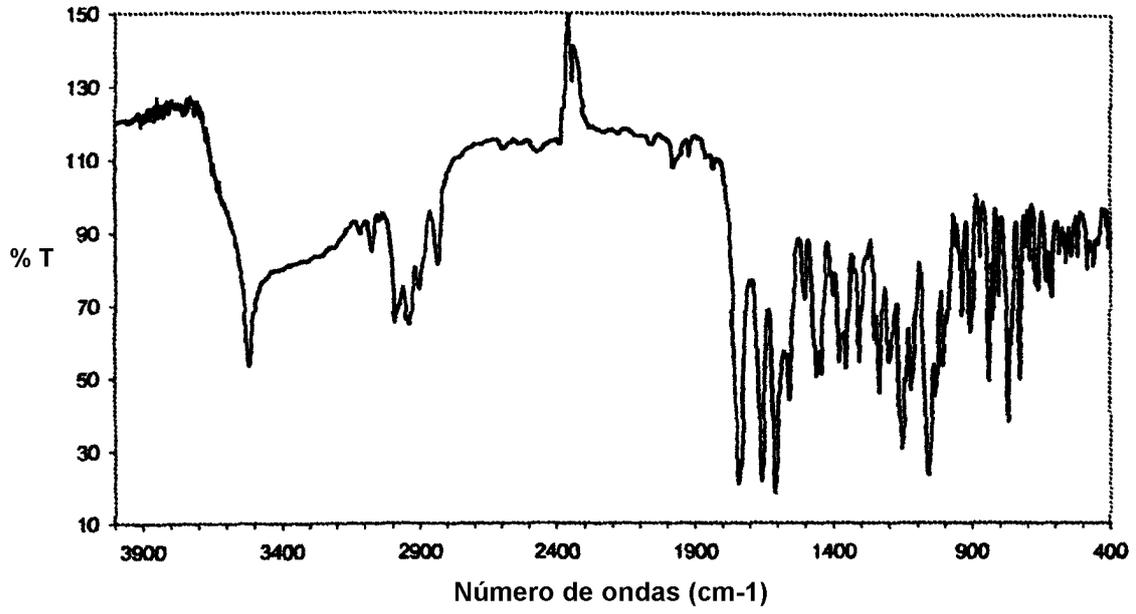


Figura 2

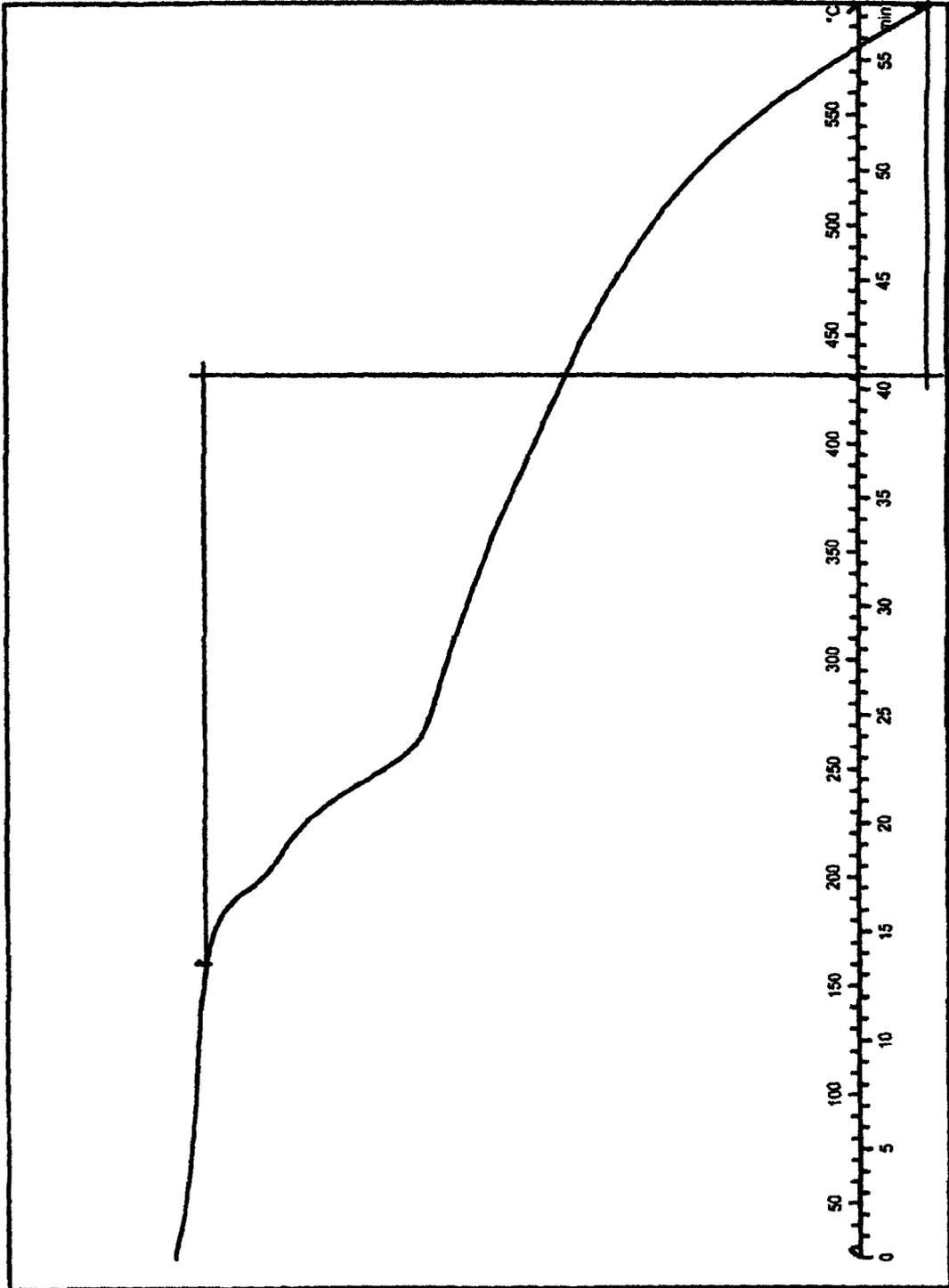


Figura 3

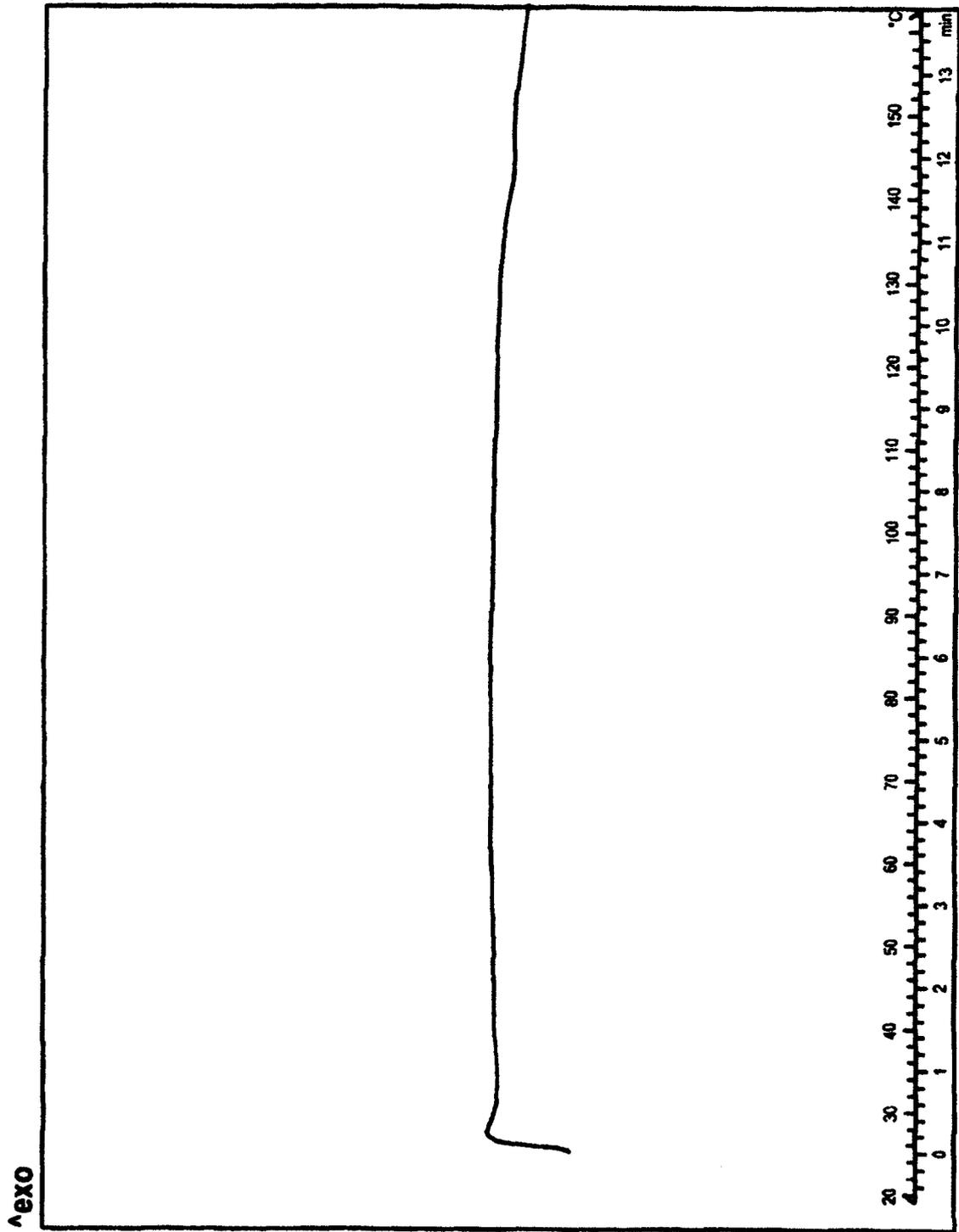


Figura 4

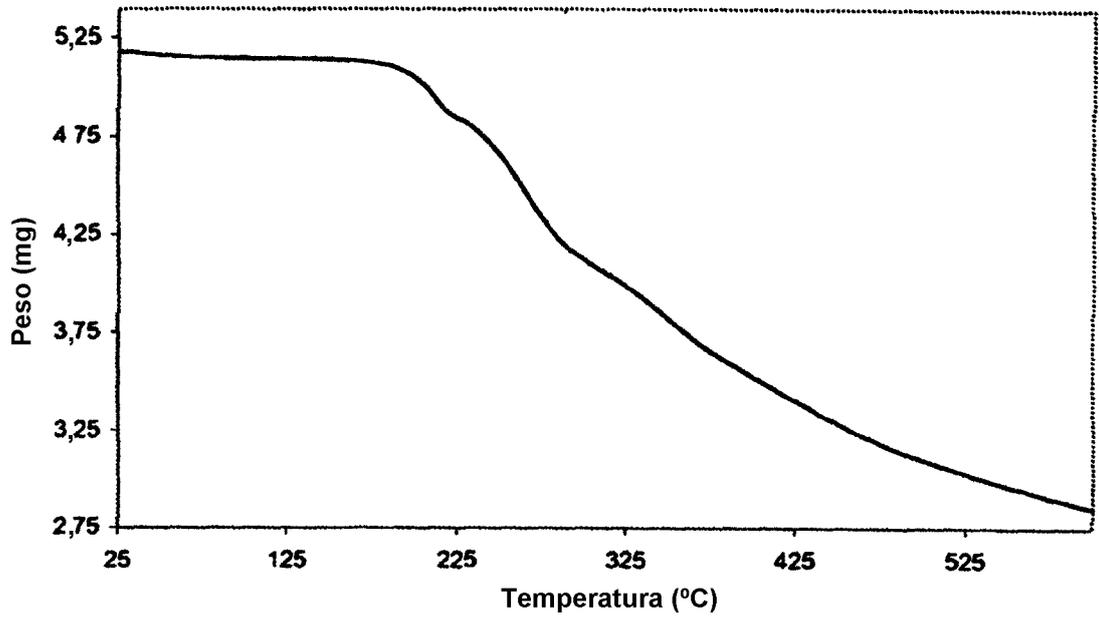


Figura 5

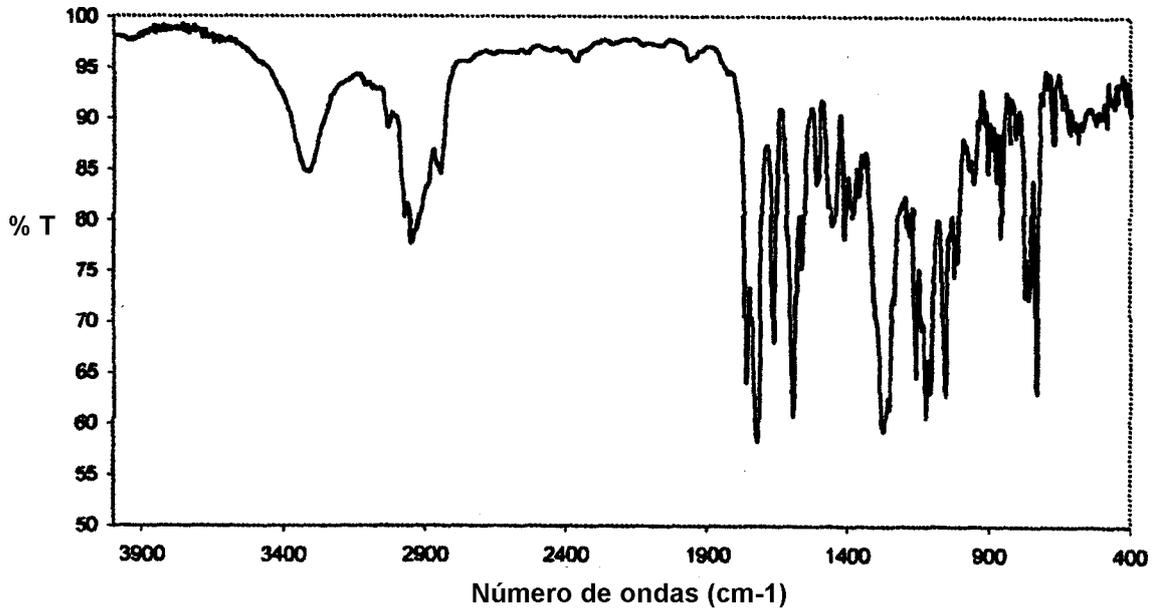


Figura 6

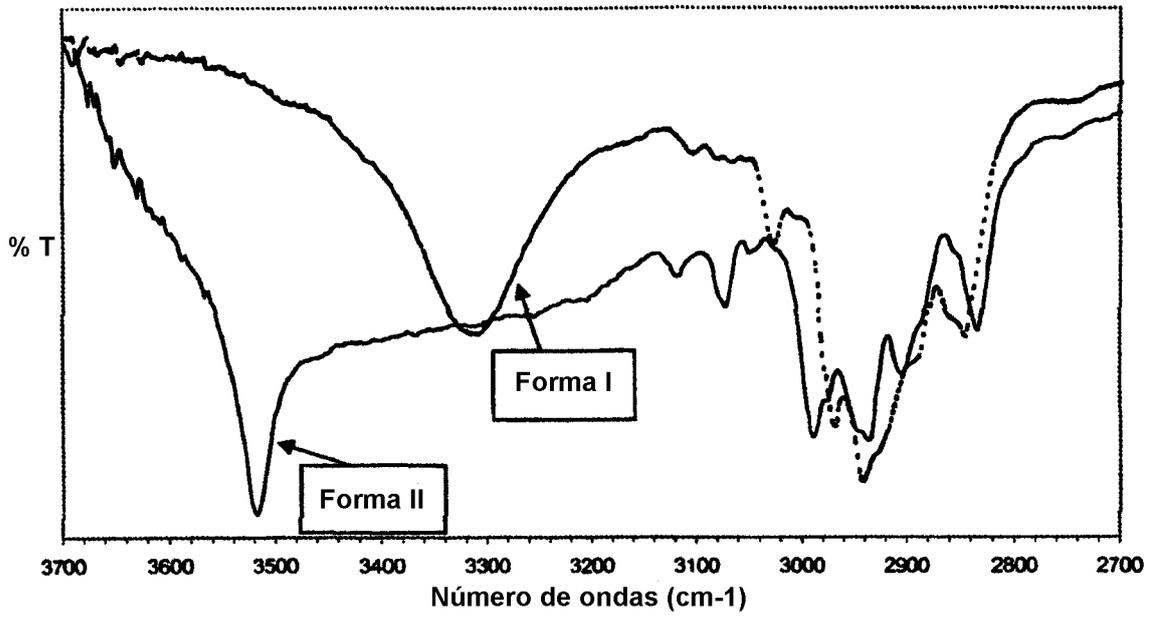


Figura 7

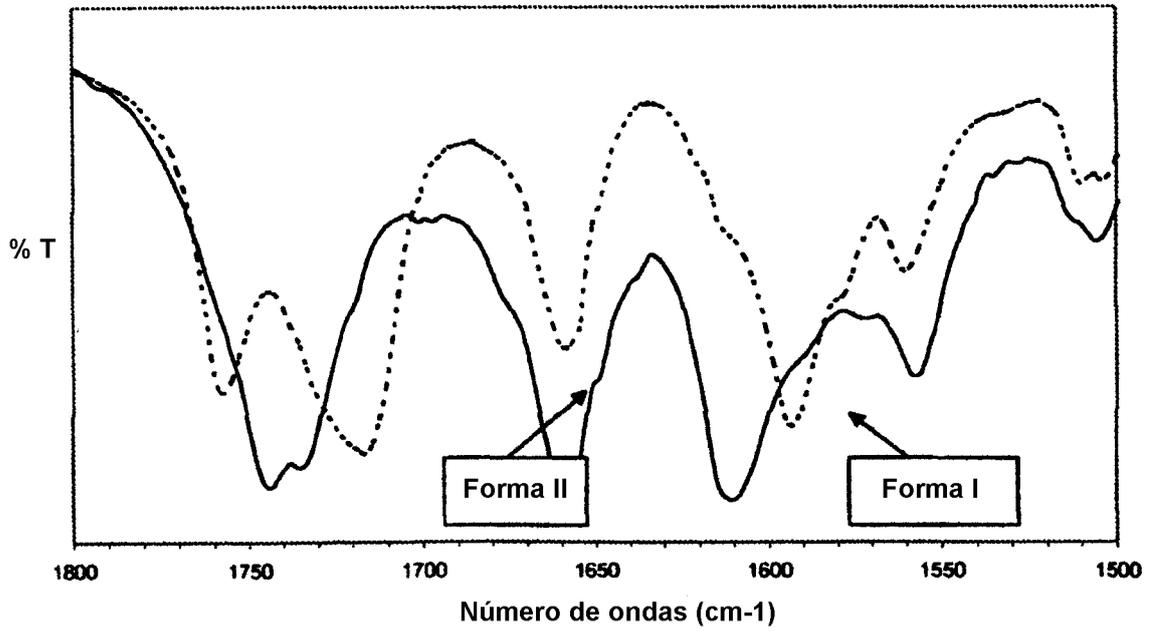


Figura 8

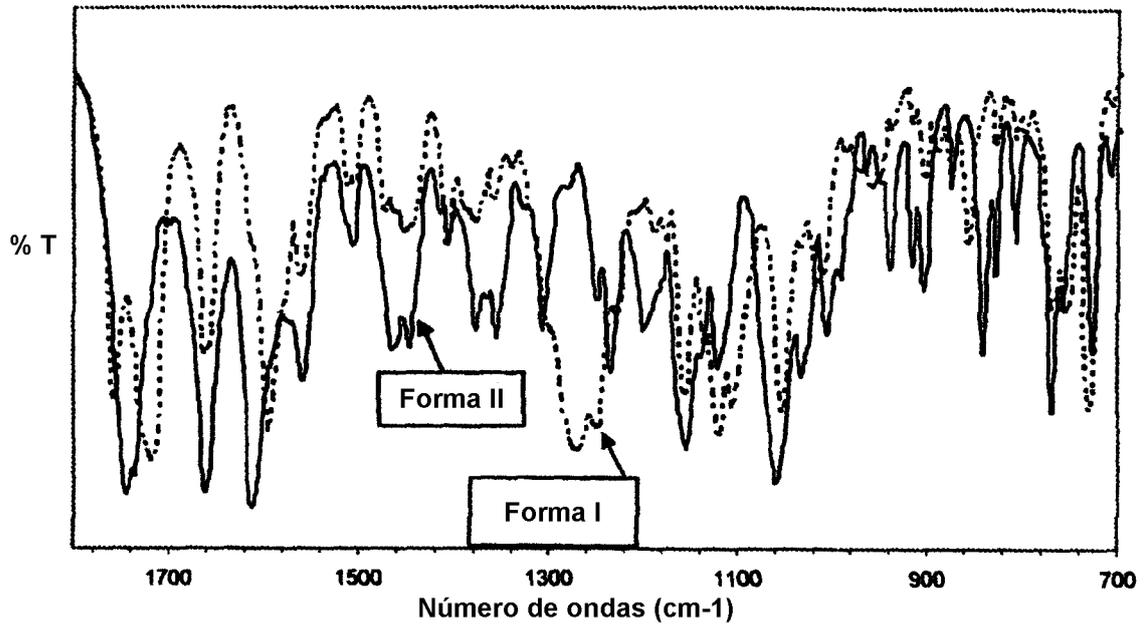


Figura 9

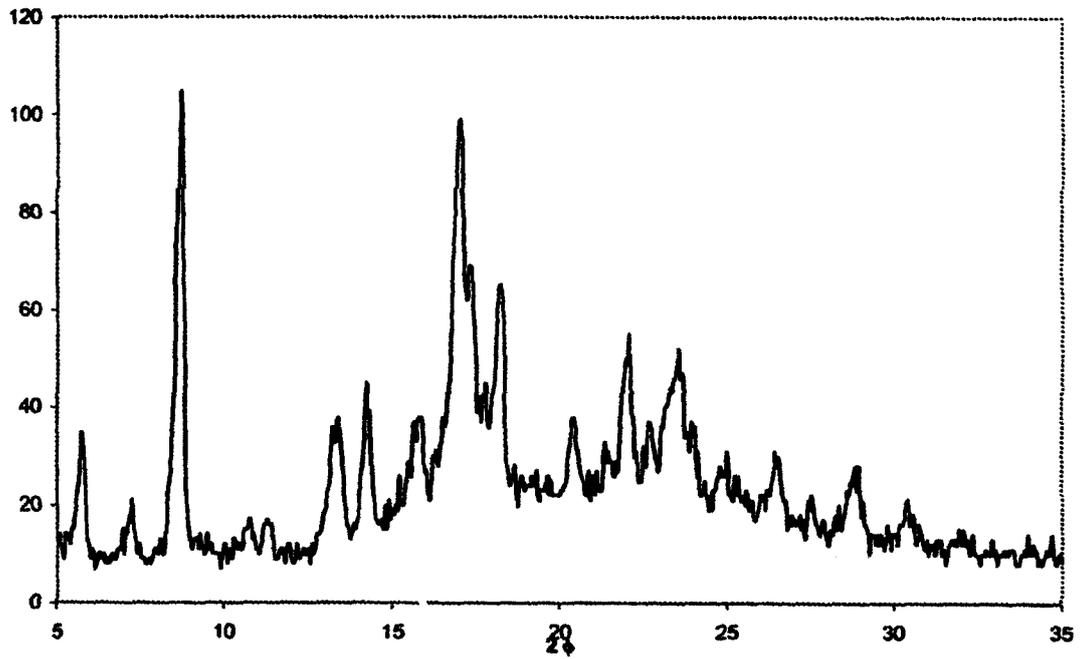


Figura 10

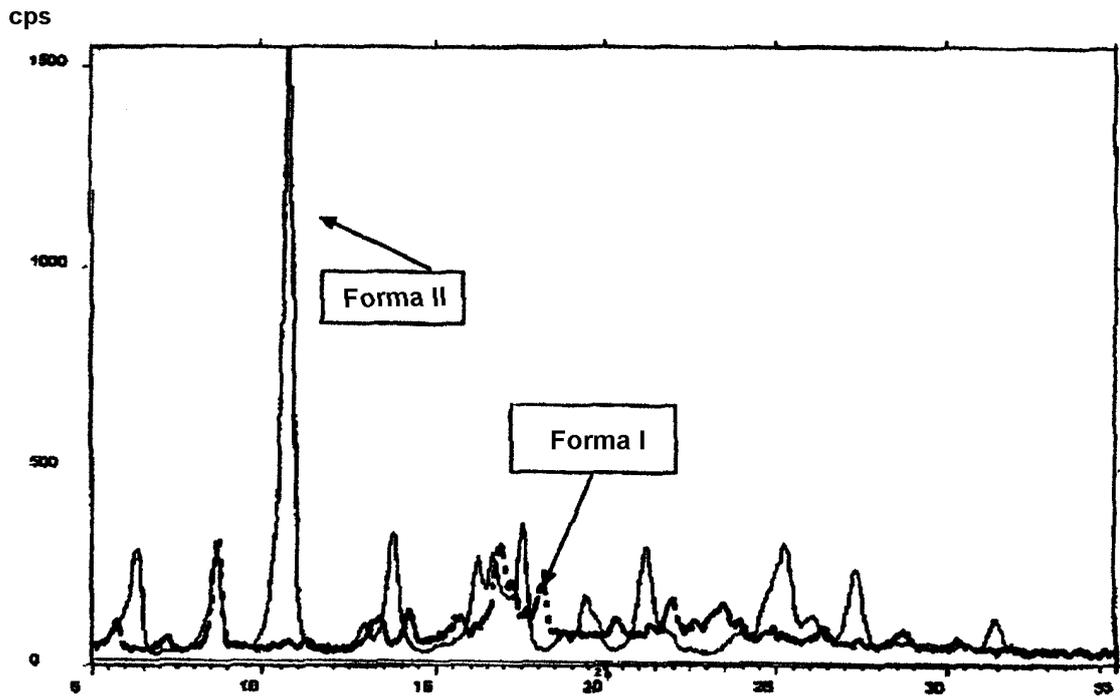


Figura 11

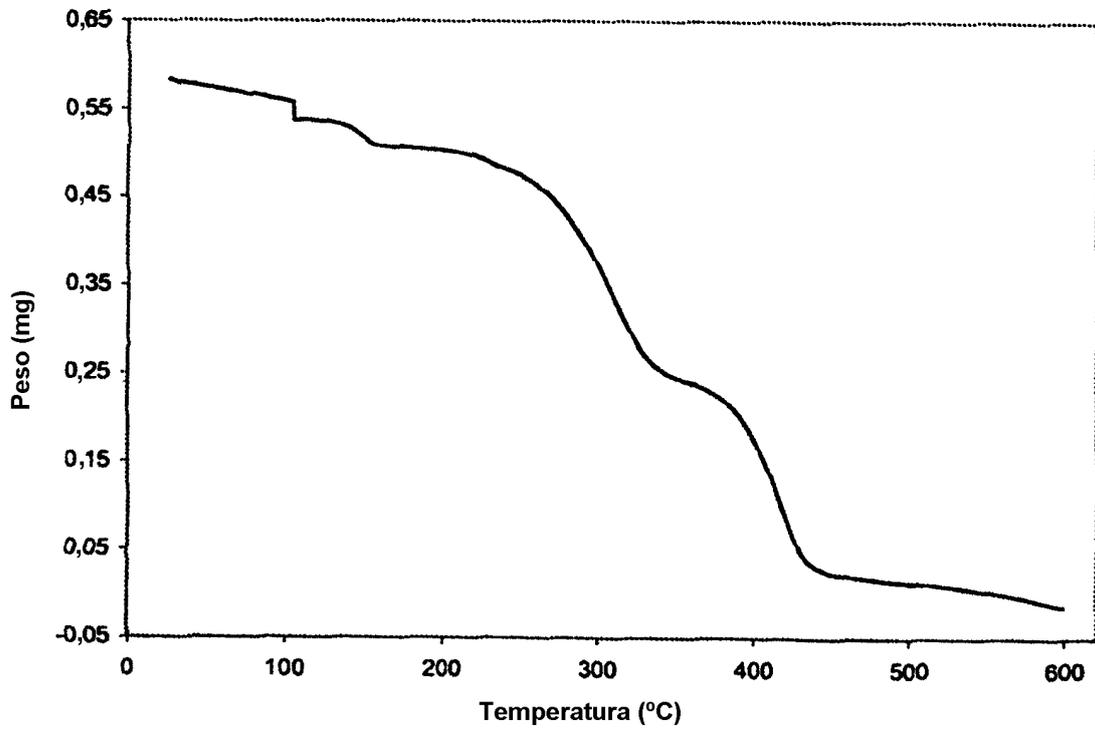


Figura 12